



TITLE:

ニホンザルの赤血球酵素変異(Ⅲ 共同利用研究 2 研究成果)

AUTHOR(S):

石本, 剛一

CITATION:

石本, 剛一. ニホンザルの赤血球酵素変異(Ⅲ 共同利用研究 2 研究成果). 霊長類研究所年報 1971, 1: 84-87

ISSUE DATE:

1971-09-20

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/160422>

RIGHT:

ルは、これまでの報告と同様、100頭以上調査したが Hemoglobin 型に変異は認められない。

α_1 -antitripsin 型変異についても Hemoglobin 型の場合とはほぼ同様の結果である。しかしマカク属のある種ではヘテロ型と思われるパターンが存在し、さらに分析する必要がある。一方リスザル等では上記分析方法では α_1 -antitripsin 型様のパターンは現われず分析は不可能である。したがってすべての霊長類におけるこの変異を分析するためには酵素活性を inhibit する性質を利用する等の他の方法によることも考えねばならないと思われる。

Hemoglobin 型および α_1 -antitripsin 型の電気泳動の変異は種内においては相当変異性に乏しいと考えられる。しかし分析例数が極めて少ない種が大部分であり、そのように断定することは決してできない。特に α_1 -antitripsin 型については他の報告によって種内変異の存在がマカク属の種内において確認されている。

ニホンザルの赤血球酵素変異*

石 本 剛 一 (三重県立大・医・法医)

*第15回プリマテス研究会, 1971年; 第55回日本法医学会, 1971年発表

近年血液中のさまざまな血清タンパクや血球酵素に遺伝変異(多型)を示す多くの形質が存在することがヒトをはじめ種々の霊長類で報告されている。多型性形質の研究から求められる遺伝子分布をマーカーとして集団間の遺伝的構成の比較を試みる事が可能となるが、ニホンザルの場合他種マカクにくらべ血液成分多型に関し変異性に乏しいという観察があるので (Ishimoto, et al., 1965; Goodman, 1967), 多数の血液試料を収集して種内変異を示す多型形質を探索することを目的に8種類の赤血球酵素について表現型の分析を試みた。そしていくつかの酵素型は250例をこえるニホンザル試料の調査で全て同一の表現型のみがみられたが、ある形質は数種表現型を示して多型的であること、他の2種酵素でもまれに変異型が出現することが認められた。さらに変異型の出現を群別に調べると変異遺伝子は一部の群にのみ偏って分布する傾向があると示唆される興味ある知見がえられた。

試料と方法

本研究に用いた試料は全て霊長研変異研究部で採取保存されたサル血液からなる。ヘパリン添加採血された血液は血漿分離後生理食塩水で充分洗滌され赤血球は -20°C に保存された。血球溶血液は使用時2倍量の蒸留水を加えて凍結融解させて作製した。血球試料の凍結保存期間は3日から2ヵ月程度まで試料により異なるが赤血球酵素型判定に支障ないと考えられた。検査例数は調査さ

れた形質により若干相違するが最も多数例調べられたPHIの場合表1に示すように7種以上の異なる群からえられたニホンザル (Fus と略す) 276例、および比較試料として他種マカク51例 (アカゲ Mul, タイワン Cyc, ブタオ Nem, ペニガオ Spe, カニクイ Iru を含む) の計327例である。調査された形質は主としてヒトで変異型の見出されている赤血球酵素を対象とし、方法はヒトの場合に準じ (Giblett, E.R., 1969), でんぷんゲル電気泳動と特異染色により分析された。

結 果

i) Phosphohexose isomerase (PHI) :

検査数 Fus 276, Mul 27, Cyc 20, Nem 2, Spe 1, Iru 1.

ヒトではまれに遺伝的変異型が出現する本酵素がニホンザルを含むマカクでより著しい変異性をもち既に8種表現型の存在が観察されている (Ishimoto, 1970)。本研究でその傾向を確認するとともにさらに新しく5種表現型を Fus および Mul に見出した。血球溶血液をPH8.0で電気泳動後 Fructose 6-phosphate を基質として染色するとサル PHI はヒトと異なり陽極側に1本または3本の成分として検出され、前者はホモ接合型後者はヘテロ接合型とみなされる。マカクの common type PHImac 1 表現型以外に Fus では2-1型が25例見出されるとともに今回の試料で推定される変異遺伝子のホモ接合型 PHImac 2 型が1例発見された。さらに新しい表現型7-1型(3例)8-1型(1例)もみられたが両表現型は Iru によく出現する5-1型を基準として区別される。他種マカクでは Mul の3例 Cyc の4例に変異型がみられ他は全て PHImac 1 型を示した。Mul の変異型は PHImac 9-1 型(2例)9型(1例)と名づけられた新しい表現型でそのアイソザイムは著しく負電荷を示す特徴的な泳動パターンをもち Cyc の変異型は全て同種にすでに観察されていた4-1型に一致した。図1, 2に PHI のでんぷんゲル泳動パターンを示し、表1にニホンザルの PHI 表現型の分布をまとめた。

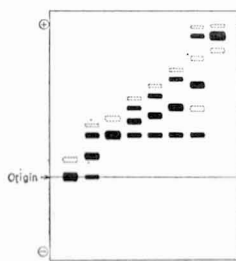


図1 マカク PHI 表現型模式図。本研究で観察された全表現型を泳動度の順に並べて示す。

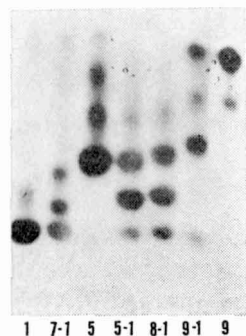


図2 マカク PHI でんぷんゲル泳動パターン。PHImac 5-1, 5 は Iru 比較試料。

ii) Phosphoglucose mutase (PGM) :

検査数 Fus 266, Mul 24, Cyc 16, Nem 2, Spe 1.

ヒト PGM は 3 種表現型からなる多型を示すがマカク PGM はほとんどの試料でヒト PGM 1 型類似の泳動パターンを示す。Iru にさまざまな PGM 異常型が存在することが記載されているが (Ishimoto et al., 1968; Barnicot & Cohen, 1970), 今回の試料にそのような異常型はなく Fus 4 例を除き全てヒト PGM 1 型類似の表現型がみられた。Fus 4 例はヒト PGM 2-1 型類似の泳動パターンを示しヘテロ接合型と推定されるがこの 4 例は全て調査した高浜の群 (54 例) から見出されている。

iii) Acid phosphatase (AP) :

検査数 Fus 266, Mul 27, Cyc 20, Nem 2, Spe 1, Iru 1.

Phenolphthalein diphosphate を基質として赤血球 AP を検出すると通常マカク AP は 2 個の染色ゾーンとさらにその部分分解物と考えられる 1 個の弱い染色ゾーンがヒト AP より陽極側に位置して認められる。Iru で AP 多型が報告されているが (Ishimoto et al, 1968; Barnicot & Cohen, 1970; Lai, 1967), 今回の試料から通常のマカク AP パターン以外に Fus ゾーンからなる変異型がみられた。この表現型は Iru で記載される AC type に一致すると考えられ Fus でもまれに変異型が存在することがわかった。Fus で見出された PGM および AP 変異型の泳動パターンを図 3 に示した。

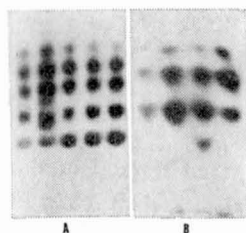


図 3 A ニホンザル PGM 泳動パターン。
B ニホンザル AP 泳動パターン。
見出された変異表現型を示す。

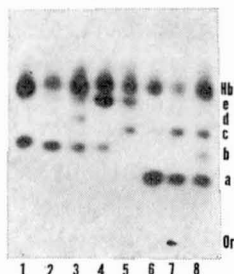


図 4 マカク Dia 泳動パターン。
1) ヒト, 2) 3) Cyc, 4) 5) Mul, 6) 7) 8) Fus, Hb ヘモグロビン, Or 原点を示す。

iv) 6-Phosphogluconate dehydrogenase (PGD) :

検査数 PHI に同じ。

リン酸緩衝液 PH7.0 を用い、でんぷんゲルおよび電極槽に NADP を加えて泳動後スライスしたゲルの 1 片を 6-Phosphogluconic acid を基質として PGK 検出を、他の 1 片を Glucose 6-phosphata を基質として後述の G 6 PD 検出を行なう方法で調査した。大陸産

のマカクに PGD 多型が存在するがフィリピンの Iru, Cyc, Fus の如き島国のサルに変異が見出せないという報告があるが (Prychodko et al., 1971), 今回の試料では Mul 2 例 Spe を除き全て 1 本の酵素成分をもつヒト PGD A 型類似の表現型がみられた。変異型は全て 3 本のアイソザイムからなり既報の変異型 (Prychodko et al., 1971) で記すと Mul は AB, Spe は AD 型に相当する。少数の他種マカクに変異型がみられ Fus は全て同一表現型を示したことは PGD 変異は Fus に存在しても極めてまれであることを推測させる。

v) NADH diaphorase (Dia) :

検査数 PGM に同じ。

最近ヒト Dia に電気泳動で識別される変異型がまれに存在することが報告された。マカク血液試料を用いてサル Dia 表現型を検討すると未だ詳細の不明な点があるが種間変異のみられる形質と考えられた。マカク Dia は図 4 に示すように電気泳動的に 5 種成分を分離することができるが表現型の同定は未だできていない。それは本酵素の特徴として血液試料の保存によりアイソザイムに変化が生ずることがあり泳動度の遅い成分から順に仮に a, b, c, d, e と名づけると同一試料で a → a c → c, b → b e → e の変化が観察される。通常各個体は 1 ~ 2 の Dia 成分をもつが Fus 全例に a(c) 成分がみられ Mul, Cyc は b(e) または b d 成分がみられ例外は Fus, Mul 各 1 例にみられた a b c 3 成分をもつ個体のみで他の Fus に b, e 成分をもつ個体はなく Mul, Cyc に a, c 成分は全く認められなかった。Nem, Spe には a c 成分がみられた。さらに多数のマカク試料について検討する必要があるがマカク Dia 成分の分布が種間で極端に異なることが示唆される。さらに Dia 検出の際 Hemoglobin 泳動パターンが同時に観察されるが既に各種マカクで検討された如く (Ishimoto et al., 1970) Fus, Mul, Cyc に全く変異をみなかった。

vi) Glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD), Adenosine deaminase (ADA), Lactate dehydrogenase (LDH) :

検査数 G 6 PD PGD に同じ, ADA, LDH, PGM に同じ。

ヒトで多型のみられる ADA, まれに遺伝的変異型の出現する G 6 PD, LDH を調べると, G 6 PD はヒト G d B 型より速い位置に 1 本の成分が ADA はヒト ADA 1 型をより陽極側へ泳動させた如きパターンが LDH はヒト血球と区別されない泳動パターンが全例に観察され種内変異は認められなかった。

表1 ニホンザルPHI表現型の分布

群集団	No.	PHImac 1	2-1	2	7-1	8-1
三方	48	42	6			
高浜	54	54				
霊仙山	13	13				
小豆	47	47				
高崎山	64	44	18	1		1
幸島	10	7			3	
屋久	15	15				
その他	25	24	1			
	276	246	25	1	3	1

考 察

これまでニホンザル血液成分に多型形質が認められたものとして血清タンパクの transferrin (Tf) (石本, 1970), α_1 antitrypsin (Pi) 赤血球酵素の PHI (Ishimoto, 1970), carbonic anhydrase I (CAI) (Tashian & Goodman)があり他種マカクに種内変異があるがニホンザルで見出されない形質として血清 prealbumin, hemoglobin, PGD, CA II (Ishimoto et al., 1970; Prychodko, et al., 1971; Tashian & Goodman; Weiss, et al., 1971)があった。今回の調査からこの傾向は確認されるとともに血球酵素 PGM に一部ニホンザル集団で変異性にとむ可能性があること PHI に多様な変異遺伝子が出現することが加えられた。一般に東南アジアに広く分布するマカクにおいてその中心地域に棲息する集団に著しい変異性がみられ分布の周辺や島国のマカクに変異性が乏しいことが知られていて (Goodman, 1967), 淘汰, 隔離, 集団間の遺伝子交流などに起因すると考えられている。事実ニホンザルで種内変異の存在する形質でもその変異型の頻度は非常に低い場合が多い。しかしニホンザルにおいてそれら変異型の出現頻度を補綴地別に分類すると表1に示す PHI 型の分布にみられるように変異遺伝子が一部集団に偏って観察されることがわかる。即ち PHImac² 遺伝子は高崎山と三方の集団に見出され、他は宮崎高畑の1個体以外検出することなく PHImac⁷ 遺伝子は幸島の小集団のみに存在した。同様の傾向は他の形質にも見出され、今回の PGM 型判定で54例の高浜のサルに4例のヘテロ表現型が示された以外他の212例のニホンザルに変異がないこと、Tf 分布でヘテロ表現型 FG が三方、高浜、島根の群にのみ見出されていること、Pi 型変異で common allele P_{imac}^c 以外に P_{imac}^d が高崎山 P_{imac}^f が三方、島根の群にかなりの頻度で観察されること、CAI 型変異でニホンザルに見出される変異型 (AD²) が三

原、小豆の群れに集中していることなど列挙することができる。これらの事実はおそらく交配集団の小さいサルの群れでは遺伝子頻度の機会的変動による影響が大きいこと、ニホンザル集団間の遺伝的交流が極端に限られることから地理的に近接する群間でも遺伝子頻度が著しく異なる場合があることなどを示している。今後より多数例の試料をもとめてさまざまな集団について検討されることを期待しその調査形質の1つとして赤血球酵素 PHI が有効であることが認められたが、今回の調査が多数例の試料を短期間に分析することから電気泳動による方法のみが採用されたが、当然他の分析技術による多型形質研究も為されねばならないであろう。

ま と め

250例以上のニホンザルおよび他種マカク約50例の血球溶血液を用いて電気泳動により8種類の赤血球酵素表現型が分析された。ニホンザルで PHI に多型を認めるとともに他の2種酵素でまれに変異型が出現することが観察された。変異遺伝子が一部の群集団に偏って分布する傾向を示すことは今後集団間の関係を検討する際に多型形質の調査が非常に有効である場合の生ずることが示唆される。

文 献

- 1) Barnicot, N.A. & Cohen, P. (1970) *Biochem. Genet.*, 4, 41.
- 2) Giblett, E.R. (1969) *Genetic Markers in Human Blod*. Blackwell.
- 3) Goodman, M. (1967) *Primates*, 8, 1.
- 4) Ishimoto, G., Toyomasu, T. & Uemura K. (1965) *Primates*, 6, 272.
- 5) Ishimoto, G. (1970) *J. Anthropol. Soc. Nippon*, 78, 334.
- 6) 石本剛一 (1970) 神経進歩 14, 556.
- 7) Ishimoto, G., Toyomasu, T. & Uemura K. (1968) *Primates*, 9, 395.
- 8) Ishimoto, G., Tanaka, T., Nigi, H. & Prychodko, W. (1970) *Primates*, 11, 229.
- 9) Lai, L.Y.C. (1967) *Acta genet.*, Basel 17, 104.
- 10) Omoto, K., Harada, S., Tanaka, T., Nigi, H. & Prychodko, W. (1970) *Primates*, 11, 215.
- 11) Prychodko, W., Goodman, M., Singal, B. M., Weiss, M.L., Ishimoto, G. & Tanaka, T. (1971) *Primates*, 12 (in press)
- 12) Tashian, R.E. & Goodman, M.: personal communication
- 13) Weiss, M.L., Goodman, M., Prychodko, W.

& Tanaka, T. (1971) *Primates*, 12 (in press)

下記の方々は原稿未着につき研究題目、氏名のみを記させていただきます。

昭和44年度

- 寒冷環境における適応能の生理・生態学的研究
佐藤方彦 (九芸工大・人間工学)
-

津川克治・大沢 清 (大阪市大・理・生物)

- 随意運動と不随意運動の発現機序
柳沢信夫 (東大・医・脳研)
- テレメトリーによる霊長類の生態研究に関する方法論
安藤 滋 (愛知県立大・生物)

昭和45年度

- ニホンザルの地域ポピュレーションの総合的研究
川中健二 (京大・理・自然人類)
- 霊長類の生活様式とロコモーション
水野昭憲 (京大・理・動物)

3. シンポジウム・研究会

生物科学における霊長類に関する研究の位置

期 日：1968年12月13日 (金)
～14日 (土)

参加者：約100名

司会：時実利彦 (京大・霊長研)

閉会のことば：近藤四郎 (京大・霊長研)

I. 霊長類の形態学的研究とその課題

江原昭善 (順天堂大・医・解剖)

討論者：岩本光雄 (京大・霊長研)

II. 霊長類の適応と社会構造

河合雅雄 (京大・霊長研)

討論者：中根千枝 (東大・東洋文化研)

杉山幸丸 (京大・理・自然人類)

III. 行動の実験的研究

室伏好子 (京大・霊長研)

討論者：糸魚川直祐 (阪大・文・心理)

徳田喜三郎 (J.M.C.)

IV. 実験環境の霊長類に及ぼす影響

高木健太郎 (名大・医・生理)

V. 遺伝的多型と霊長類

尾本恵市 (東大・理・人類)

討論者：石本剛一 (三重県大・医・法医)

VI. 薬理学とサル

柳田知司 (央中研)

討論者：城戸良之助 (塩野義研)

VII. サルにおける実験神経学—サルの小脳切除による症状—

楳林博太郎 (順天大・医・神経)

討論者：藤森開一 (北大・医・生理)

VIII. 神経生理学的研究とサル

久保田 競 (京大・霊長研)

討論者：酒田英夫 (大阪市大・医・生理)

閉会のことば：園原太郎 (京大・霊長研)

霊長類集団の維持機構

期 日：1969年3月14日 (金)

参加者：約100名

森下正明 (京大・理・動物)

司会 松永 英 (遺伝研)

河合雅雄 (京大・霊長研)

日本周辺における在来家畜集団の維持

野沢 謙 (名大・農・家畜)

(追加口演) 霊長類集団における遺伝的変異の維持

石本剛一 (三重県大・医・法医)

人口変動の人口学的諸要因

小林和正 (厚生省・人口研)

(追加口演)

伊藤嘉昭 (農林省・農技研)

生活環境と個体群動態

東 滋 (京大・霊長研)

(追加口演) 個体群動態の要因としての栄養環境

朝日 稔 (武庫川女大・家政・生物)

小集団における個体配置の空間的構造

徳田喜三郎 (J.M.C.)

(追加口演)

都守淳夫 (J.M.C.)

平尾武久 (群馬大・医・行動医学)

霊長類社会の進化についての一試論

川村俊蔵 (大阪市大・理・生物)

(追加口演) 霊長類の社会進化に関する一異論

水原洋城 (J.M.C.)

ブッシュマンの社会構造

田中二郎 (東大・教養・文化人類)

(追加口演)

米山俊直 (甲南大・文・文化人類)